

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.  
Vol. 14, 1976, pp. 189–195

## Mikromethode zur Bestimmung der Glucosekonzentration mit Glucose-Dehydrogenase auf dem AutoAnalyzer

Von A. Scholer und A. Pianezzi

*Klinisch-chemisches Laboratorium, Zentrallabor des Kantonsspitals, Basel, Schweiz*

(Eingegangen am 17. November 1975/21. Januar 1976)

**Zusammenfassung:** Ein neues AutoAnalyzer-Verfahren für die Bestimmung der Glucose in Hämolysat, Urin und Liquor aus 20 µl Probe mit Hilfe der Glucose-Dehydrogenase wird beschrieben. Ohne Einbuße an Richtigkeit, Präzision, Linearität und Empfindlichkeit können mit der gleichen Reagenzmenge, wie sie für die Handanalyse gebraucht wird (75 Proben), bis zu 900 Proben analysiert werden. Ein Vergleich mit der Hexokinase-Methode ergibt eine Korrelation von 0,9978. Eine mit den verwendeten Reagenzien verträgliche Hämolysierlösung wird beschrieben.

### *Micromethod for the determination of glucose with glucose dehydrogenase in the AutoAnalyzer*

**Summary:** A new AutoAnalyzer method is described for the determination of glucose in 20 µl of haemolysate, urine, or cerebrospinal fluid, using glucose dehydrogenase. Without loss of precision, accuracy, sensitivity, or linearity, 900 samples may be analyzed, using the same volume of reagents normally required for the manual analysis of 75 samples. A comparison with the hexokinase method yields a correlation of 0.9978. A haemolysing solution compatible with the reagents used is described.

### Einführung

Die moderne Analytik führt dazu, daß im klinisch-chemischen Laboratorium die rein chemischen Methoden (chemische Reaktion mit Farbindikator) durch einfachere physikalische Messungen (spezifische Elektroden, Atomabsorption usw.) oder sehr spezifische enzymatische und immunologische Methoden ersetzt werden. Dies gilt auch für die Bestimmung der Glucosekonzentration, wo die relativ billigen Redoxreaktionen (Hexacyanoferrat-(III), Eisen(III)-Komplexe, Neocuproin) durch Messungen mit Elektroden (Enzymmembran, ampèrometrische Indikation (1)) und durch enzymatische Bestimmungen (Glucoseoxydase, Hexokinase, Glucosedehydrogenase (2, 3, 4)) verdrängt werden. Während sich die Messungen mittels Elektroden vorläufig schlecht für eine vollkommene Automation eignen, wirken sich bei den bis heute beschriebenen enzymatischen Bestimmungen die hohen Kosten nachteilig aus. Es wurde deshalb versucht, diese Bestimmungen so zu optimieren, daß mit einem Minimum an Enzymen und Coenzymen gearbeitet werden kann und dies ohne Einbuße an Empfindlichkeit, Präzision und Richtigkeit.

Die klinischen Fragestellungen (Diabetesdienst, Glucosebelastungen, Therapieüberwachung) haben zur Folge,

daß die Glucosekonzentration sehr oft unabhängig von anderen chemischen Parametern bestimmt werden kann. Es ist deshalb von Vorteil, wenn Probenentnahme, Probenvorbereitung und analytische Methodik auf die speziellen Bedürfnisse der Klinik abgestimmt werden können. Die kapillare Blutentnahme scheint diesen Forderungen am ehesten gerecht zu werden.

Ein Verfahren, bei welchem Hämolysat von 20 µl Vollblut mit der Hexokinase-Methode auf einem AutoAnalyzer analysiert wird, haben wir schon kurz mitgeteilt (5). Da die kürzlich veröffentlichte Methode mit Glucosedehydrogenase (4) technisch sehr ähnlich abläuft und in Bezug auf Spezifität, Sensibilität und Einfachheit gleichwertig scheint, lag es auf der Hand, diese ebenfalls als Mikromethode auszuführen. In der vorliegenden Arbeit ist diese Methode nun im Detail beschrieben. Die erhaltenen Resultate werden diskutiert und mit der Hexokinase-Methode verglichen.

### Material und Methoden

Die Reaktionslösungen für die Glucosebestimmungen wurden aus der Testpackung Nr. 3389 der Firma Merck (Darmstadt) hergestellt.

### Gebrauchslösungen

**Lösung 1<sup>1)</sup>** (Verdünnungslösung). 9 g Natriumchlorid p.a. werden in 1 Liter zweifach destilliertem Wasser gelöst. Zu dieser Lösung gibt man 1 ml Triton X-100.

**Lösung 2<sup>2)</sup>** (Pufferlösung). 16,3 g Kaliumdihydrogenphosphat p.a. werden in 800 ml zweifach destilliertem Wasser gelöst. Zu dieser Lösung gibt man 8,8 g Natriumchlorid und 3,3 g Natriumhydroxid. Die ganze Lösung wird mit zweifach destilliertem Wasser zu 1 Liter ergänzt. Danach stellt man den pH auf 7,6 ein.

**Lösung 3:** (Aus Packung 3389 der Firma Merck). Inhalt zweier Flaschen 2 (0,12 mmol/l Phosphatpuffer pH 7,6; 0,15 mmol/l Natriumchlorid) zu 400 ml Lösung 2 geben. Den Inhalt aller Flaschen 4 (10 kU/l Glucose-Dehydrogenase<sup>3)</sup>, 0,35 kU/l Mutarotase<sup>4)</sup>) und 3 (0,22 mol/l NAD) mit wenig Lösung 2 lösen. Beide Lösungen vereinigen, mit 1 ml Triton X-100 versetzen und mit Lösung 2 zu 1 Liter ergänzen.

Die Lösung 3 ist nach unseren Ermittlungen 3 Wochen stabil, wenn sie im Kühlschrank bei 4 °C aufbewahrt wird.

**Spüllösung** (zur Reinigung des Gerätes): 0,1 mol/l NaOH.

**Hämolyserlösung:** 0,5 g Natriumfluorid, 0,5 g Kaliumoxalat und 1 g 4-Chlor-3-*m*-kresol werden zusammen in 1 Liter zweifach destilliertem Wasser gelöst.

**Standardprobe:** Zu genau 200 ml zweifach destilliertem Wasser gibt man 2 ml Kontrollserum (z. B. Hyland abnorm) und mischt gut durch.

Zweifach destilliertes Wasser zur Herstellung der Reagenzien (vor allem Lösung 3) ist demineralisiertem Wasser vorzuziehen. Dessen Qualität kann stark schwanken und beeinflusst die Haltbarkeit der Enzymlösungen wesentlich.

Die von uns verwendete Hämolyserlösung entstand nach eingehender Prüfung verschiedener Möglichkeiten der Zusammensetzung (siehe weiter unten).

### Materialien

Heparinisierte Glaskapillaren (Hemocaps) kauften wir von der Firma Drummond Scientific Co (Broomall, PA, USA) oder von der Firma Hirschmann (Eberstadt). Probenröhrchen stammten von Milian (Genf). Schon mit Hämolyserlösung steril abgefüllte Röhrchen konnten wir von Sarstedt (Nümbrecht-Rommelsdorf) erhalten. Die Lanzetten (Microlance) stammen von Becton-Dickinson (Orangeburg, N.Y.). Das Spezialpapier für den Schreiber wird von der Firma Diagramma (Dietikon, Schweiz) hergestellt.

### Geräte

Verwendet wurden zwei Einkanalgeräte AutoAnalyzer zweiter Generation der Firma Technicon (Tarrytown, N.Y., USA) mit Probennehmer IV, Pumpe II, 24 Zoll Dialysatoren, Kolorimeter AA<sub>II</sub>, Zweikanalschreiber und Drucker.

Der Probennehmer IV wurde von uns modifiziert, damit die Probenröhrchen mit dem Hämolyser direkt auf den Probensteller gesteckt werden können. Die angebrachten Änderungen erlauben uns auch mit demselben Probennehmer gleich zwei Analysenkanäle zu bedienen. Die technischen Einzelheiten seien hier kurz beschrieben: Der Probennehmerarm No. 171-B-13901 wird mit einem zusätzlichen Metallstück verschraubt, in welches die Halterung für eine zweite Nadel gebohrt wurde (Abb. 1).

Im Probensteller No. 171-B-154-01 wurde eine zweite, konzentrisch angeordnete Reihe von Ausbohrungen angebracht. In diese Ausbohrungen (Abb. 2, b) werden genau eingepaßte Spezialeinsätze (Abb. 2, a) eingeführt, die den kleinen Probenröhrchen mit einem Durchmesser von 12–13 mm einen sicheren

<sup>1)</sup> auch als gebrauchsfertige Lösung im Handel. Merck Art. Nr. 9407, Natriumchlorid-Brij-Lösung für die automatische Analyse (Verdünnungslösung).

<sup>2)</sup> auch als gebrauchsfertige Lösung im Handel. Merck Art. Nr. 14051, Pufferlösung pH 7,6.

<sup>3)</sup>  $\beta$ -D-Glucose: NAD-oxido-reductase, EC 1.1.1.47.

<sup>4)</sup> Aldose-1-epimerase, EC 5.1.3.3.

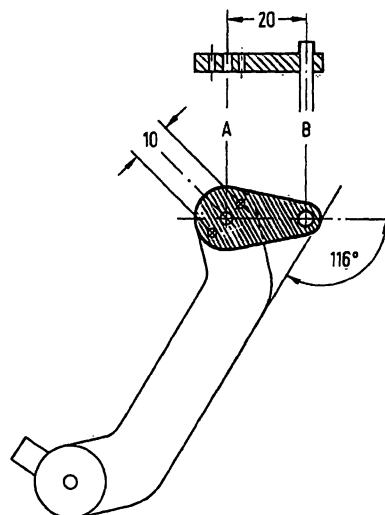


Abb. 1. Modifizierter Probennehmerarm. Das aufgeschraubte Metallstück ist schraffiert dargestellt. a und b stellen die zwei Führungen für die Ansaugnadeln dar. (Alle Maßangaben in mm)

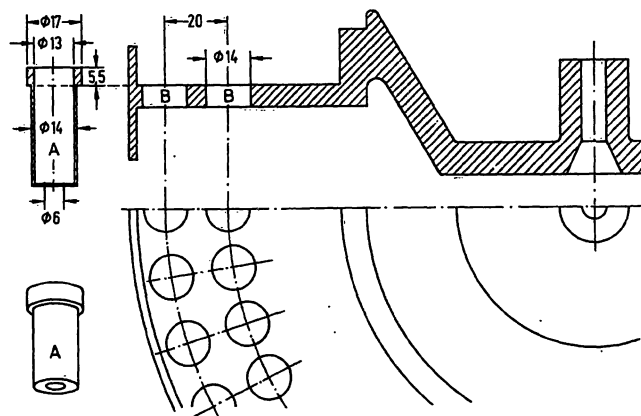


Abb. 2. Änderungen des Probenstellers und Dimensionen der Einsätze. Querschnitt und Teilaufsicht des Probenstellers. B sind die Ausbohrungen im Probensteller. Links in der Abbildung (A) wird ein Spezialeinsatz im Schnitt und in der Ansicht gezeigt. (Alle Maßangaben in mm)

Halt geben. Die Einsätze dürfen kein Spiel haben und die Probenröhrchen sollen genau in die Einsätze passen, weil die Ansaugnadel mit Sicherheit in die kleine Öffnung der Probengefäße eintauchen muß und nicht auf dem Gefäßrand aufstehen darf. Die Höhe der Probenröhrchen kann allenfalls durch Einlassen eines kleinen Stopfens in die Einsätze verändert werden.

In Abbildung 3 ist das Fließschema der Methode dargestellt. Es unterscheidet sich vom Hexokinaseschema (5) nur durch die Verlängerung der Reaktionsspirale auf 3 mal 20 Windungen (entsprechend einer Reaktionszeit von 7,5 Minuten).

**Probennehmer IV:** Cam 60 2/1  
**Dialysator:** 24 Zoll Standard, Typ C Membrane.  
**Reaktionsspiralen:** 3 × 20 Windungen entsprechend einer Reaktionszeit von etwa 7,5 Min.  
**Kolorimeter:** 1,5 mm Küvette (10 mm Lichtweg), 340 nm Filter. Es empfiehlt sich, verschiedene Filter auszuprobieren, da ihre Qualität stark variiert. Die Empfindlichkeit kann dadurch verbessert werden.  
**Phototube:** 65 CE.  
**Lampe** mit gelben Anschlußkabeln.

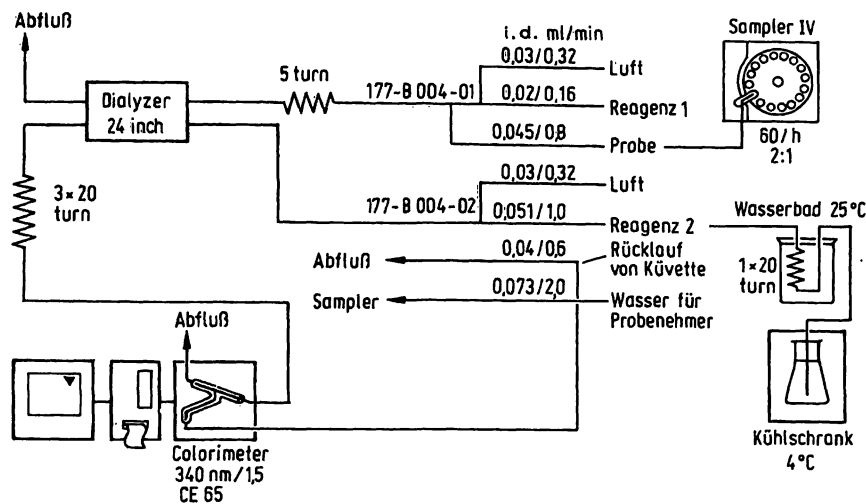


Abb. 3. Fließschema der Methode für den AutoAnalyzer zweiter Generation.

**Schreiber:** Spezialpapier mit Einteilungen von 0,5 mmol/l (oder 5 mg/100 ml) im Bereich 0–30 mmol/l (oder 0–500 mg/100 ml). Die Ablesung wird dadurch erleichtert<sup>5)</sup>.

**Digital-Drucker:** Bereich (range) 0–30,0 (oder 0–500).

### Analysen

Die Probe wird über den Probennehmer angesogen, mit Luft segmentiert und mit Natriumchloridlösung leicht verdünnt. Dialysiert wird in einem 24 Zoll Dialysator gegen Reagenz. In mehreren Verweilspiralen läuft die Reaktion, wie sie bei l.c. (4, 6) beschrieben ist, ab. Das gebildete NADH wird nach dem Entfernen der Luft in der Durchflußzelle des Kolorimeters gemessen.

### Ausführung der Bestimmungen

Zur Gewinnung von Kapillarblut wird die gereinigte Fingerbeere des Patienten mit einer Lanzette gestochen und der herausquellende Tropfen mit der Kapillare, die leicht nach unten geneigt ist, berührt. Die Kapillare wird ganz gefüllt, außen sorgfältig abgewischt, nochmals auf Vollständigkeit der Füllung geprüft und in die Hämolyseflüssigkeit gegeben. Nach mehrmaligem Schütteln des geschlossenen Gefäßes ist die Probe in der Lösung homogen verteilt und lysiert. Serum, Plasma, Liquor und verdünnter Urin (1:10 verdünnen) werden aus den entsprechenden Gefäßen in die Kapillare aufgenommen und wie oben beschrieben behandelt.

Die Proben können dann bei einer Frequenz von 60/h direkt aus den Probenröhrchen mit der Hämolyseflüssigkeit angesaugt und auf dem Technicon-Gerät analysiert werden.

Den Meßbereich kann man beim AutoAnalyzer (zweite Generation) mit einer Standardprobe direkt einstellen. Wir verwenden dazu ein Testserum, welches einen Sollwert um 12 mmol/l (oder 220 mg/100 ml) Glucose aufweist.

Es empfiehlt sich, am Anfang jeder Serie eine Standardprobe mit einer ungefähren Konzentration von 25 mmol/l (oder 450 mg/100 ml) zu analysieren, um das Reagenz zu überprüfen (z. B. zwei Kapillaren mit Hyland abnorm zu 2 ml Hämolyseflüssigkeit geben). Nach unseren Erfahrungen genügt ein Überprüfen der Einstellung des Gerätes mittels einer Standardprobe nach 18 Proben (Nr. 0 und 1 Standardprobe, Nr. 2–19 Proben, Nr. 20 und 21 Standardprobe, Nr. 22–39 Proben, Nr. 40 und 41 Standardprobe usw.).

<sup>5)</sup> Diese Studie wurde noch mit alten Einheiten (mg/100 ml) durchgeführt. Ein Bereich von 0–500 hat sich bewährt. Für die neuen Einheiten (mmol/l) dürfte deshalb ein Bereich von 0–30 oder aber von 0–25 in Frage kommen.

Vor dem Analysieren sollte der Apparat während 20–30 Minuten mit den Reagenzien gespült werden. Unmittelbar nach Beendigung der Serie empfiehlt sich das Spülen des Gerätes mit 0,1 mol/l NaOH (oder einem anderen Spülmittel) während 10 bis 15 Minuten und Nachspülen mit zweifach destilliertem Wasser während 15–20 Minuten. Bei 24 h-Betrieb sollte das System mindestens 1 mal pro Tag gespült werden.

### Ergebnisse

#### Richtigkeit

Mit verschiedenen käuflichen Kontrollseren wurde die Richtigkeit geprüft. In Tabelle 1 sind die erhaltenen Werte im Vergleich mit den Angaben der Hersteller aufgezeichnet. Auf der gleichen Tabelle sind die Variationskoeffizienten für die Präzision während eines Monats angegeben.

#### Korrelation mit der Hexokinase-Mikromethode

Bei 102 Kapillarblut-, 95 Serum-, 72 Liquor- und 60 Urinproben wurden die Korrelationskoeffizienten zwi-

Tab. 1. Richtigkeitskontrolle mit käuflichen Kontrollseren.

Sollwert = Ermittlung durch Mehrfachanalyse mit der Hexokinasehandmethode (Originalmethode der Firma Boehringer Mannheim).

Istwert = Gefundener Wert (Mittelwert aus 60 Routinebestimmungen während eines Monats).

VK = Variationskoeffizient in % (Routinebedingungen).

Testserum	Glucosekonzentration in mmol/l (mg/100 ml)		
	Sollwert	Istwert	VK
Versatol High 0922 110	17,59 (317)	17,09 (308)	3,6
Versatol low 1690021	4,38 (79)	4,22 (76)	4,7
Calibrate 2598073	10,27 (185)	9,93 (179)	4,7

schen der früher beschriebenen Hexokinase-Methode (5) und der hier aufgeführten Methode bestimmt (Tab. 2). In der Abbildung 4 ist die gute Übereinstimmung auch bildlich dargestellt.

Tab. 2. Korrelation der Methode mit der Hexokinase-Mikromethode, wie sie in l. c. (5) beschrieben ist, für Kapillarblut-, Serum-, Liquor- und Urinalysen.

Probenart	N	r = Korrelationskoeffizient	Regressionsgerade $y = a + bx$
Kapillarblut	102	0,9978	$y = 1,6 + 0,98x$
Serum	95	0,9934	$y = 3,8 + 0,998x$
Liquor	72	0,9989	$y = -1,97 + 0,991x$
Urin	60	0,99724	$y = 0,5 + 1,0x$

Abszisse (x): Wert der Hexokinase-Methode

Ordinate (y): Werte der Glucose-Dehydrogenasemethode

### Wiederauffindung

Zu drei verschiedenen Testseren wurden je 2,775 mmol/l (50 mg/100 ml) und 5,555 mmol/l (100 mg/100 ml) Glucose zugesetzt. Im Durchschnitt ergab sich eine Wiederauffindung von 99,2% (Bereich: 97%–103%).

### Präzision

Die Präzision in der Serie für hohe und niedere Glucosewerte ist in Tabelle 3 aufgeführt. Es wurden dabei 10mal hintereinander die gleichen Proben analysiert. In derselben Tabelle sind die Präzision während eines Tages (sequentielle Analyse verschiedener Proben) und von Tag zu Tag während einer Woche aufgezeichnet (Für die Präzision während eines Monats siehe Tab. 1).

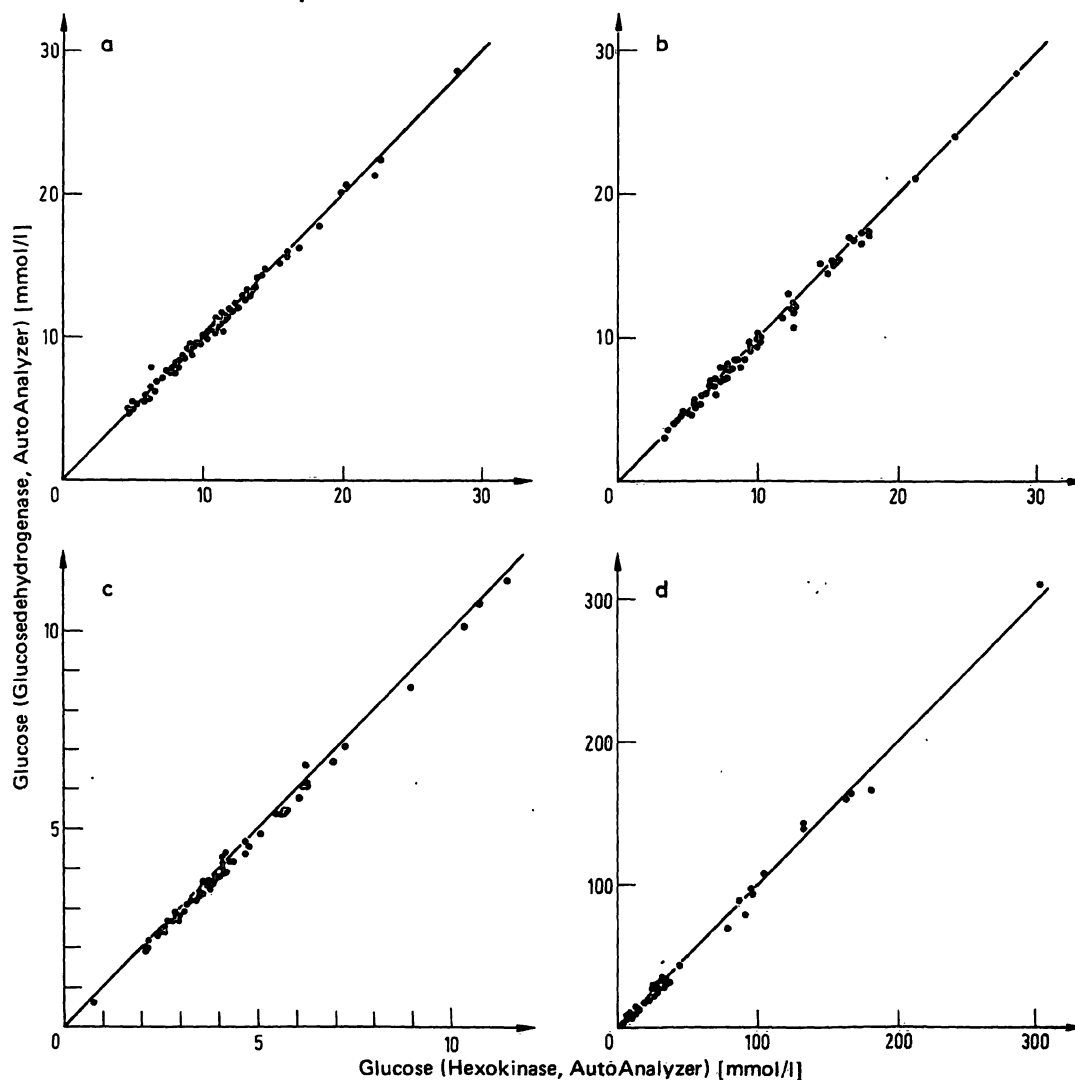


Abb. 4. Korrelation der Glucosebestimmungsmethode auf dem AutoAnalyzer mit der Methode wie sie in l.c. (5) beschrieben ist.

a) Kapillarblutproben

b) Serumproben

c) Liquorproben

d) Urinproben

Tab. 3. Präzision in der Serie, während eines Tages und von Tag zu Tag.

VK = Variationskoeffizient (%).

	Anzahl Werte	Mittelwert mmol/l	(mg/100 ml)	VK
Präzision in der Serie	19	5,90	(106,3)	0,53
	20	16,63	(299,7)	0,75
Präzision während eines Tages	20	5,62	(101,35)	1,25
	20	16,54	(298,1)	0,73
Präzision von Tag zu Tag während einer Woche	14	16,76	(302)	3,0

### Linearität

Im Bereich von 0–27 mmol/l Glucose konnte die Linearität durch verschiedene Verdünnungen von Testseren und wässrigen Glucoselösungen überprüft werden. Abbildung 5 zeigt die Linearität in diesem Bereich.

### „steady state“ und Verschleppung

Wie Abbildung 6 zeigt, entspricht der Wert des Analysesignals etwa 97% des „steady-state“-Signals. Die Kurve ist im Moment der Signalabnahme durch den Drucker schon

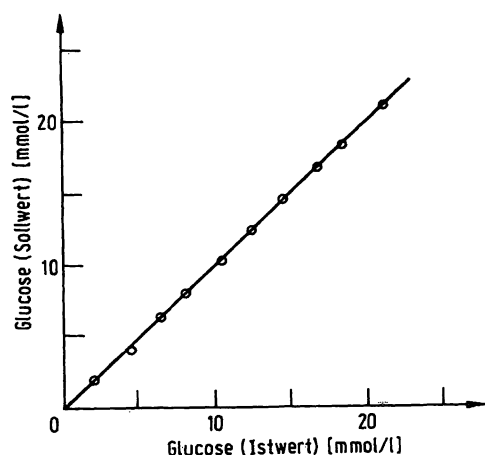


Abb. 5. Linearität im Bereich von: 0–27 mmol/l (0–400 mg/100 ml)

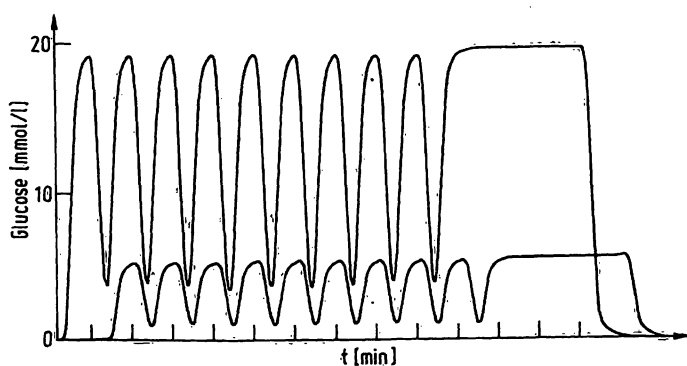


Abb. 6. Präzision in der Serie für je 10 Proben der Konzentrationen 5,3 und 19,5 mmol/l. Probe Nr. 10 wurde während etwa 4 Minuten angesaugt, um das „steady state“-Niveau zu zeigen.

so stark abgeflacht, daß auch geringe Änderungen in der Reaktionsgeschwindigkeit (z. B. wegen Temperaturänderung) keinen Einfluß auf die Signalhöhe haben.

Die Verschleppung wurde nach der von *Hjelm* (7) beschriebenen Methode bestimmt und ergab einen Interaktionskoeffizienten  $q$  von 0,005. Dieser Wert belegt den außerordentlich geringen Störeinfluß durch Verschleppung, was im übrigen auch in Abbildung 6 zum Ausdruck kommt.

### Störungen

Die Dialyse schließt alle wesentlichen Störungen aus (Enzyme, Eiweiß). Da die Reaktion in einer einzigen Stufe abläuft, ist die Störungsanfälligkeit zum vornehieren klein. Die Sauberkeit der Enzyme und die dadurch mögliche Beeinflussung der Reaktion wurde bereits beschrieben (4).

Wir testeten die Methode mit folgenden möglichen Störsubstanzen, welche in einer Konzentration von 2 g/l im Testserum vorlagen: Fructose, Mannose, Lactose, Ascorbinsäure, Inulin, Stärke, Maltose, Glucuronsäure, Saccharose, Galaktose, Kreatinin, Glutathion. Keine dieser Substanzen gibt eine sichtbare Störung (Tab. 4).

In der großen Verdünnung, mit welcher gearbeitet wird, kann die Glucose auch in Urämiker-Seren gemessen werden, wobei die nieder-molekularen UV-aktiven Stoffe, welche nach l.c. (8) die Messung ohne Leerwert bei 340 nm stören, keinen Einfluß mehr ausüben. Dies gilt auch für Urinproben von Normalpatienten und Urämikern. Alle von uns geprüften Urine, welche nach der Hexokinase-Handmethode (9) keine Glucose enthielten, ergaben Leerwerte, die unterhalb von 0,27 mmol/l lagen. Nach unseren Erfahrungen wird die Uringlucosebestimmung nicht gestört.

### Hämolysier- und Verdünnungslösung

Die Probennahme mit Hilfe von Kapillaren wurde schon von anderen Autoren beschrieben (10, 11). Der Zusammen-

Tab. 4. Einfluß verschiedener Substanzen auf die beschriebene Methode. Es wurden jeweils 3 verschiedene Tests ausgeführt. Der Durchschnittswert ist hier aufgeführt.

zugesezte Substanz (2000 mg/l)	Analysenergebnis Glucose (mmol/l)	(mg/100 ml)
Serum ohne Zusatz	11,38	(205)
Fructose	11,38	(205)
Mannose	11,49	(207)
Lactose	11,38	(205)
Ascorbinsäure	11,27	(203)
Inulin	11,38	(205)
Stärke	11,38	(205)
Maltose	11,49	(207)
Glucuronsäure	11,38	(205)
Saccharose	11,38	(205)
Galaktose	11,43	(206)
Kreatinin	11,54	(208)
Glutathion	11,49	(207)

mensetzung der Hämolyse- und Verdünnungslösung wurde hier besondere Beachtung geschenkt, da diese Lösung einer ganzen Reihe von Kriterien standhalten muß:

- Beschleunigung der Hämolyse
- Verhinderung der Glykolyse
- Bakterizide Wirkung
- Verträglichkeit mit den Reagenzien
- Lagerungsfähigkeit auch bei Raumtemperatur

Nur wenn all diesen Kriterien entsprochen ist, kann die Lösung in die Probenröhrchen abgefüllt und längere Zeit aufbewahrt werden. Auch nach der Blutabnahme muß das Hämolysat eine gewisse Zeit unverändert bleiben; bei Kontamination mit Bakterien oder Pilzen oder bei ungenügender Blockierung der Glykolyse nimmt der Glucosegehalt des Hämolysates sehr schnell ab.

Nachstehende Reihe bekannter Lösungen wurde nach obigen Kriterien geprüft:

- A 1,5 ml Eisessig, 0,1 g Maleinimid, 10 ml Digitoninlösung (10 g/l), in 1 Liter zweifach destilliertem Wasser.
- B 0,1 g Maleinimid und 1 ml Triton X-100, in 1 Liter zweifach destilliertem Wasser.
- C 5 g Phenol, 0,5 g Natriumfluorid, 0,5 g Kaliumoxalat, in 1 Liter zweifach destilliertem Wasser.
- D 5 g 4-Chlor-*l*-butanol, 0,5 g Natriumfluorid, 0,5 g Kaliumoxalat, in 1 Liter zweifach destilliertem Wasser.
- E 0,2 g Kaliumsorbat, 0,5 g Natriumfluorid, 0,5 g Kaliumoxalat, in 1 Liter zweifach destilliertem Wasser.
- F 10 g Benzylalkohol, 0,5 g Natriumfluorid, 0,5 g Kaliumoxalat, in 1 Liter zweifach destilliertem Wasser.
- G 250 ml Aqua conservans<sup>6)</sup>, 0,5 g Natriumfluorid, 0,5 g Kaliumoxalat, auf 1 Liter mit zweifach destilliertem Wasser aufgefüllt.

<sup>6)</sup> „Aqua conservans“ = 0,7 g 4-Hydroxybenzoesäuremethyl-ester und 0,3 g 4-Hydroxybenzoesäurepropylester in 1 Liter zweifach destilliertem Wasser.

H 1 g 4-Chlor-3-*m*-kresol, 0,5 g Natriumfluorid, 0,5 g Kaliumoxalat, in 1 Liter zweifach destilliertem Wasser.

I Gesättigte Thymollösung mit 0,5 g Natriumfluorid und 0,5 g Kaliumoxalat, in 1 Liter zweifach destilliertem Wasser.

J 0,5 g Natriumfluorid, 0,5 g Kaliumoxalat in 1 Liter zweifach destilliertem Wasser.

Die Beurteilung der Lösungen ist in Tabelle 5 zusammengefaßt. Lösung H ging aus diesen Prüfungen als am besten geeignete hervor<sup>7)</sup>.

### Diskussion

Die eben beschriebenen Ergebnisse zeigen, daß die Glucosedehydrogenase-Methode in Bezug auf Richtigkeit, Reproduzierbarkeit und Störungsfreiheit der Hexokinase-Methode gleichzustellen ist. Beide Methoden sind linear bis 30 mmol/l und zeichnen sich durch hohe Empfindlichkeit aus. Die Glucosedehydrogenase-Methode bietet gegenüber der Hexokinase-Methode den Vorteil, daß die Reagenzien länger haltbar (3–4 Wochen bei 4 °C) und billiger sind und daß die Reaktion in einer einzigen Stufe abläuft.

Gute Erfahrungen haben wir auch mit der Kapillar-Blutentnahme gemacht: Es wird sehr wenig Blut benötigt (20 µl), Interferenzen mit Infusionen sind ausgeschlossen, Venenpunktionen entfallen und die Entnahme kann deshalb auch von nicht medizinisch geschultem Personal (Laborpersonal) ausgeführt werden, die Infektionsgefahr wird verringert.

Die Probenvorbereitung ist äußerst einfach und der technische Aufbau der Apparatur unkompliziert. Es werden nur zwei Reagenzlösungen benötigt. Eine Umstellung

<sup>7)</sup> Probenröhrchen, welche mit dieser Lösung steril abgefüllt sind, können nun bei Sarstedt (Nümbrecht-Rommelsdorf) bezogen werden.

Tab. 5. Beurteilung der geprüften Verdünnungs- und Hämolyse-lösungen nach verschiedenen Kriterien.

Lösung	Beeinflussung der Reaktion bei verschiedenen Probenmaterialien				Bakt. Resistenz während 1 Monat	Glykolysehemmung über 48 h	Gesamteindruck	Bemerkungen
	Urin	Kapillarblut	Serum	Haltbarkeit während 1 Monat				
A	x	o	o	xx	xx	xx	o	stört die Reaktion
B	xx	o	o	xx	xx	xx	o	stört die Reaktion
C	o	x	x	xx	x	xx	o	stört die Reaktion
D	x	xx	xx	xx	xx	xx	x	—
E	x	x	x	xx	o	o	o	keine bakt. Resistenz
F	x	x	x	xx	x	xx	x	—
G	x	xx	xx	o	o	o	o	keine bakt. Resistenz
H	xx	xx	xx	xx	xx	xx	xx	gut herstellbar
I	xx	xx	xx	xx	x	xx	x	Trübung des Hämolysats
J	xx	xx	xx	o	o	o	o	—

Beurteilung: xx gut    x brauchbar    o nicht brauchbar

von der früher verwendeten Neocuproin-Methode von Technicon (12) auf diese neue Methode verlangt wenig Änderungen<sup>8)</sup>. Probennehmer, Pumpe, Manifold und Photometer können gleich eingesetzt werden wie für die alte Redoxmethode; die Glucosedehydrogenase-Methode verlangt zusätzlich lediglich einen 24 Zoll Dialysator und ein Filter für 340 nm. Das früher verwendete Heizbad von 95°C entfällt. Die Reaktionszeit beträgt im Bereich von 2,77 mmol/l (50 mg/100 ml) bis 27,75 mmol/l (500 mg/100 ml) etwa 7,5 Minuten bei 25°C.

<sup>8)</sup> Die Entnahmetechnik mit Kapillaren wurde schon für die Neocuproinmethode eingeführt. Die Anregung dazu verdanken wir Herrn Dr. Viollier (Basel), welcher auch die Änderungen am Probennehmer vorgeschlagen hatte.

Das beschriebene Verfahren wird in unserem Laboratorium seit mehr als 6 Monaten im 24h-Notfallbetrieb ohne namhafte Störungen angewendet. Dank dem geringen Reagenzienverbrauch, der großen Driftfreiheit der Basislinie und den oben erwähnten Vorteilen eignet es sich sehr gut dazu.

### Danksagung

Wertvolle Unterstützung und Hilfe beim Abfassen dieser Arbeit erhielten wir von Herrn Prof. D. Vonderschmitt. Der Firma Merck danken wir für das Überlassen von Gratisproben der Reagenzien und für ihr reges Interesse an der Entwicklung dieser Methode.

### Literatur

1. Nagy, G., Von Storp, L. H. & Guilbault, G. G. (1973). *Anal. Chim. Acta* 66, 443–455.
2. Romano, A. T. (1973). *Clin. Chem.* 19, 1152–1157.
3. Da Fonseca-Wollheim, F. (1973), *diese Z.* 11, 24–30.
4. Banauch, D., Brümmer, W., Ebeling, W., Metz, H., Rindfrey, H., Leybold, K. & Rick, W. (1975), *diese Z.* 13, 101 bis 107.
5. Holm, Hanna, Pianezzi, A. & Scholer, A. (1975), *diese Z.* 13, 541–543.
6. Merck Darmstadt, Arbeitsanleitungen in den Testpackungen.
7. Hjelm, M. (1968). *Z. Anal. Chem.* 243, 781–790.
8. Warnock, L. G., Stone, W. J. & Wagner, C. (1974). *Clin. Chem.* 20, 1213–1216.
9. Boehringer Mannheim, Arbeitsanleitungen Biochemica Testkombinationen.
10. Hilger, P., Henkel, E. & Delbrück, A. (1970), *diese Z.* 8, 579–581.
11. Brügmann, G., Niessen, K. H., Schmidt, Kathrin & Golling, Dorothea (1973), *diese Z.* 11, 506–508.
12. Technicon (1970). *AutoAnalyzer Bulletin* 2032-11-70-2.

A. Scholer, dipl. chem.  
Klinisch-chemisches Laboratorium  
Kantonsspital Basel  
CH-4004 Basel

